

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

18 February 1999 (18.02.99)

International application No.:

PCT/JP98/03581

Applicant's or agent's file reference:

YCT-346

International filing date:

12 August 1998 (12.08.98)

Priority date:

12 August 1997 (12.08.97)

Applicant:

ENDO, Koichi et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

08 September 1998 (08.09.98)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

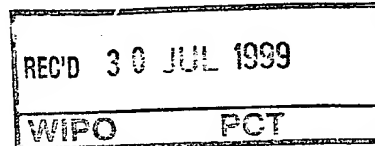
Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

20.
IT

特 許 協 力 条 約




PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-346	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/03581	国際出願日 (日.月.年) 12.08.98	優先日 (日.月.年) 12.08.97
国際特許分類(IPC) Int. Cl ⁸ A61K45/00//A61K31/17, 31/195		
出願人(氏名又は名称) 中外製薬株式会社		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
I ☒ 国際予備審査報告の基礎
II ☐ 優先権
III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
IV ☐ 発明の単一性の欠如
V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
VI ☐ ある種の引用文献
VII ☐ 国際出願の不備
VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 08.09.98	国際予備審査報告を作成した日 14.07.99	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 瀬下 浩 	4C 9284
電話番号 03-3581-1101 内線 3452		

様式PCT/IPEA/409(表紙)(1998年7月)

1. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
☐ 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
☐ 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語
3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1 - 7	有
	請求の範囲		無
進歩性 (I S)	請求の範囲	1 - 7	有
	請求の範囲		無
産業上の利用可能性 (I A)	請求の範囲	1 - 7	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

請求の範囲1-7に記載された発明は、国際調査報告にあげられた文献に記載されておらず、また、これらの文献から自明なものでもない。

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-346	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/03581	国際出願日 (日.月.年) 12.08.98	優先日 (日.月.年) 12.08.97
出願人(氏名又は名称) 中外製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び／又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.[°] A61K45/00//A61K31/17, 31/195

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.[°] A61K45/00//A61K31/17, 31/195

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	RALSTON, S. H, NITRIC OXIDE AND BONE: WHAT A GAS!, British Journal of Rheumatology, August 1997, Vol. 36, No. 8, pp. 831-838.	1-7
A	SUNYER, Teresa et al, Ca ²⁺ or Phorbol Ester But Not Inflammatory Stimuli Elevate Inducible Nitric Oxide Synthase Messenger Ribonucleic Acid and Nitric Oxide (NO) Release in Avian Osteoclasts: Autocrine NO Mediates Ca ²⁺ -Inhibited Bone Resorption, Endocrinology, May 1997, Vol. 138, No. 5, pp. 2148-2162	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 10. 98

国際調査報告の発送日

10.11.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

河野下 浩一

4 C

9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3453

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	BLANDI, M. L. et al, Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, Vol. 92, pp. 2954-2958	1 - 7
A	TRACEY, W. Ross et al, In vivo pharmacological evaluation of two novel type II(inducible) nitric oxide synthase inhibitors, Can. J. Physiol. Pharmacol., 1995, Vol. 73, pp. 665-669	1 - 7
A	MOORE, William M. et al, L-N ⁶ -(1-Iminoethyl)lysine: A Selective Inhibitor of Inducible Nitric Oxide Synthase, J. Med. Chem., 1994, Vol. 37, No. 23, pp. 3886-3888	1 - 7

特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人
社 本 一 夫
殿
あて名 〒 100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所

PCT

国際予備審査報告の送付の通知書

（法施行規則第57条）
〔PCT規則71.1〕

発送日
（日.月.年） 27.07.99

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-346	重要な通知	
国際出願番号 PCT/JP98/03581	国際出願日 （日.月.年） 12.08.98	優先日 （日.月.年） 12.08.97
出願人（氏名又は名称） 中外製薬株式会社		
<p>1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。</p> <p>2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。</p> <p>3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。</p> <p>4. 注 意</p> <p>出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））（様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。</p> <p>国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。</p> <p>この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。</p> <p>選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第Ⅱ巻を参照すること。</p>		

名称及びあて名 日本国特許庁（IPEA/JP） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員 特 許 庁 長 官 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 9284
---	---	---------

様式PCT/IPEA/416（1992年7月）

（添付用紙の注意書きを参照）

特 許 協 力 条 約

PCT

国際予備審査報告


(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-346	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/03581	国際出願日 (日.月.年) 12.08.98	優先日 (日.月.年) 12.08.97
国際特許分類(IPC) Int. Cl. ⁶ A61K45/00//A61K31/17, 31/195		
出願人(氏名又は名称) 中外製薬株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 08.09.98	国際予備審査報告を作成した日 14.07.99	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 瀬下 浩 	4C 9284
電話番号 03-3581-1101 内線 3452		

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1-7 有
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 1-7 有
請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 1-7 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1-7に記載された発明は、国際調査報告にあげられた文献に記載されておらず、また、これらの文献から自明なものでもない。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03581

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K45/00 // A61K31/17, 31/195

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K45/00 // A61K31/17, 31/195

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	RALSTON, S.H, NITRIC OXIDE AND BONE: WHAT A GAS!, British Journal of Rheumatology, August 1997, Vol. 36, No. 8, pp.831-838	1-7
A	SUNYER, Teresa et al., Ca ²⁺ or Phorbol Ester But Not Inflammatory Stimuli Elevate Inducible Nitric Oxide Synthase Messenger Ribonucleic Acid and Nitric Oxide(NO) Release in Avian Osteoclasts: Autocrine NO Mediates Ca ²⁺ -Inhibited Bone Resorption, Endocrinology, May 1997, Vol. 138, No. 5, pp.2148-2162	1-7
A	BLANDI, M.L. et al., Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, Vol. 92, pp.2954-2958	1-7
A	TRACEY, W. Ross et al., In vivo pharmacological evaluation of two novel type II (inducible) nitric oxide synthase inhibitors, Can. J. Physiol. Pharmacol., 1995, Vol. 73, pp.665-669	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
26 October, 1998 (26. 10. 98)

Date of mailing of the international search report
10 November, 1998 (10. 11. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03581

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MOORE, William M. et al., L-N ⁶ -(1-Iminoethyl)lysine: A Selective Inhibitor of Inducible Nitric Oxide Synthase, J. Med. Chem., 1994, Vol. 37, No. 23, pp.3886-3888	1-7

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

09/485583

1614

Translation

Applicant's or agent's file reference YCT-346	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP98/03581	International filing date (day/month/year) 12 August 1998 (12.08.1998)	Priority date (day/month/year) 12 August 1997 (12.08.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 45/00 // 31/17, 31/195		
Applicant CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 08 September 1998 (08.09.1998)	Date of completion of this report 14 July 1999 (14.07.1999)
Name and mailing address of the IPEA/JP Japanese Patent Office, 4-3 Kasumigaseki 3-chome Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan Facsimile No.	Authorized officer Telephone No. (81-3) 3581 1101

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/03581

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP 98/03581

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-7	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-7	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-7	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

The inventions disclosed in Claims 1-7 are not disclosed in the documents cited in the international search report, nor are they obvious to a person skilled in the art.



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 A61K 45/00 // 31/17, 31/195</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/07412</p> <p>(43) 国際公開日 1999年2月18日(18.02.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/03581</p> <p>(22) 国際出願日 1998年8月12日(12.08.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/251264 1997年8月12日(12.08.97) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 中外製薬株式会社 (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA)[JP/JP] 〒115-8543 東京都北区浮間5丁目5番1号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 遠藤弘一(ENDO, Koichi)[JP/JP] 草野健一郎(KUSANO, Kenichiro)[JP/JP] 〒412-8513 静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中外製薬株式会社内 Shizuoka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 社本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.) 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: REMEDIES FOR DISEASES ASSOCIATED WITH BONE RESORPTION</p> <p>(54)発明の名称 骨吸収関連疾患治療剤</p> <p>(57) Abstract Remedies for diseases associated with bone resorption wich contain as the active ingredient a selective iNOS inhibitor and are useful as remedies for osteoporosis, bone mass retaining agents, bone resorption inhibitors, tumor cell-bone metastasis inhibitors, remedies for nephritis, progression retardants for chronic renal failure, etc.</p>		

iNOS 選択的阻害剤を有効成分とする骨吸収関連疾患治療剤は、骨粗鬆症治療剤、骨量維持剤、骨吸収抑制剤、腫瘍細胞の骨転移阻害剤、腎炎治療剤、慢性腎不全の進行遅延剤等として有用である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー		
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KR	韓国	RU	ロシア		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		

明 細 書

骨吸収関連疾患治療剤

技術分野

5 本発明は、iNOSが病態の発症または進展に係わる骨吸収関連疾患を治療する薬剤に関する。すなわち、本発明は、iNOS選択的阻害剤を有効成分とする骨吸収関連疾患治療剤に関する。さらに詳しくは、本発明は、iNOS選択的阻害剤を有効成分とする、骨粗鬆症治療剤、骨量維持剤、骨吸収抑制剤、腫瘍細胞の骨転移阻害剤、腎炎治療剤、慢性腎不全の進行遅延剤等として用いられる骨吸
10 収関連疾患治療剤に関する。

背景技術

Nitric oxide (以下、NOと略す) は、従来平滑筋細胞の弛緩因子の本体として理解されてきたが、最近の研究により様々な組織で多彩な作用を
15 発揮することが報告されている (Nathan, C. F. & Hibbs, J. B. Jr. : Curr. Opin. Immunol., 3: 65-70, 1990, Liew, F. Y. & Cox, F. E. G. : Immunol. Today, 12: A17-21, 1991)。NOの産生は、NO synthase (NOS) により制御されており、NOSには現在3種類のアイソフォームが存在することが知られている (Forstermann, U., Schmidt, H. H. H. W., et al Biochem. Pharmacol. 42: 1849-1857, 1991)。その中の1つである、type II NOS (inducible NOS: iNOS) は、種々のサイトカインにより発現制御を受けることから各種病態に関与する可能性が指摘されている (Moncada, S.
20 et al Pharmacol. Rev., 43: 109-142, 1991, Nathan, C FASEB J. 6: 3051, 1992)。

25 近年、骨代謝を調節する因子として、NOが注目されている。NOドナーであるニトログリセリンが骨減少抑制に効果を発揮することが報告された (Wima

lawansa S. J., et al 1996 Bone 18:301-304)。また、NOドナーであるsodium nitroprusside (SNP) が骨吸収の指標であるpit形成を減少させることが報告された (Kasten T. P., et al. 1994 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3569-3573)。これらの報告から、NO産生促進が骨粗鬆症に対して治療的に働くものと考えられていた (Schmidt, H. H. W et al 1992 J. Histochem. cytochem 40, 1439-1456)。一方で、骨粗鬆症に関与すると考えられている炎症性サイトカインである、IL-1、TNF- α などは、iNOSを亢進させてNOの産生を促進させることが知られている (Mika Hukkanen et al 1995 Endocrinology 136:5445-5453, 1995)。

最近、アメリカ骨代謝学会において、健常人の骨組織では、type I NOS (Neural-constitutive NOS) およびtype III NOS (endothelial-constitutive NOS) のみが発現しているもののiNOSの発現は認められないことが報告された (Chow J. W. M., et al 1996. J. Bone Miner. Res. 11, supplement 1:M354)。

一方、癌細胞が骨組織に生着する際の足場においては、骨吸収が活発に行われていることが知られている (Eilon G, Mundy GR, Nature. 1978;276:726-728, Mundy GR, Raisz LG, et al, N Engl J Med. 1974;291:1041-1046)。

また、腎炎惹起の最初のシグナルは、NF- κ B遺伝子の活性化であり、これに引き続いて、iNOS遺伝子の活性化が起こることが知られている (Xie, et al J. Exp. Med., 177:1779-1784, 1994)。

このように、NOが関係する、骨吸収関連疾患は、骨粗鬆症をはじめとして、腫瘍細胞の骨転移、腎炎、慢性腎不全といった多岐にわたる。

さて、WO（国際出願公開）96-30350号公報には、NOSが係わる疾患の治療剤として有用なアミジン誘導体が記載され、また、NOSが係わる疾患の一つとして骨粗鬆症が挙げられている。しかしながら、具体的なデータとしては、nNOSに対する阻害活性が開示されているのみである。

5 前述したとおり、iNOSは、骨代謝に深く関与し、骨吸収に関係している。

本発明の治療剤の対象は、骨吸収関連疾患全般にわたるが、特に、骨粗鬆症、腫瘍細胞の骨転移、腎炎、慢性腎不全などが挙げられる。

10 骨粗鬆症は、高齢社会の到来とともに、医療のみならず社会的にも重要な課題として注目されている。骨粗鬆症の治療薬としては、エストロゲン、カルシトニン、活性型ビタミンD、ビタミンKおよびビスホスホネートなどが用いられているが、それぞれ回春現象、薬剤耐性、高カルシウム血症、溶血作用および薬剤耐性などの問題点があり臨床上の満足は十分とはいえない。

15 また、先に述べた、癌細胞の骨組織への生着と骨吸収の関係から、骨吸収を制御することにより、腫瘍細胞の骨転移を抑制することが考えられる。したがって、腫瘍細胞の骨転移もまた、骨吸収に関連した疾患であるといえる。

また、NF- κ B遺伝子の活性化に続くiNOS遺伝子の活性化により、腎炎が惹起されることから、iNOSを選択的に阻害することは、腎炎の治療上きわめて重要な意義をもつものといえる。さらに、慢性腎不全における尿毒症症状の改善および透析導入の遅延という点でも有意義である。

20 発明の開示

本発明の目的は、iNOSが病態の発症または進展に係わる疾患を治療する薬剤に関するものであり、iNOS選択的阻害剤を有効成分とする骨吸収関連疾患の治療剤を提供することである。

25 本発明者は、iNOSを選択的に阻害することが骨吸収関連疾患の治療につながるものと考え、鋭意研究を重ねた結果、iNOSの選択的阻害剤が骨吸収に関連した疾患に有用であることを見だし本発明を完成させた。とりわけ、前記の報告に記載された、骨粗鬆症とNOならびにNOSに係わる知見を踏まえて、正

常状態においてはiNOSは発現せず、病態時にiNOSが発現していると考えた。そこで、iNOSを選択的に阻害することが骨粗鬆症の治療につながると考えて検討した結果、iNOS選択的阻害剤が、IL-1あるいはTNF- α などで惹起されたと考えられる骨粗鬆症の病態において認められる骨吸収を阻害することにより骨の減少を抑制することを見いだした。

すなわち、本発明は、iNOS選択的阻害剤を有効成分とする骨吸収関連疾患の治療剤を提供する。

また、本発明は、骨粗鬆症治療剤、骨量維持剤、骨吸収抑制剤、腫瘍細胞の骨転移阻害剤、腎炎治療剤、または慢性腎不全の進行遅延剤として用いる上記の骨吸収関連疾患治療剤を提供する。

図面の簡単な説明

図1は、腰椎骨密度の減少に対する本発明治療剤の抑制効果を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

本発明において、「iNOS選択的阻害剤」とは、3種類あるNOSのアイソフォームのうち2種の構成型アイソフォーム、eNOS、nNOSに対して極めて作用が弱く、誘導型であるiNOSに選択的な阻害効果を有する化合物の一群をいい、eNOSに対する効果とnNOSに対する効果がiNOSに対する効果より弱ければ、それら2種の強弱に関し特に制限はない。具体的には、例えば、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 88, 365-369 (1991)に記載のNOS阻害活性測定法で試験したとき、eNOS、nNOSもしくはcNOSのIC₅₀値とiNOSのIC₅₀値の比、eNOS/iNOSが25以上、nNOS/iNOSが15以上、またはcNOS/iNOSが15以上のいずれかもしくは全てを満たす薬剤が好ましい。この中には、例えば、かかる効果を有する低分子合成化合物、ペプチド化合物、微生物産物などが含まれる。これら化合物には、S-アルキルイソチオウレア誘導体や環状イソチオウレ

ア誘導体などのイソチオウレア誘導体、鎖状アミジン誘導体や環状アミジン誘導体などのアミジン誘導体、2-アミノピリジン誘導体、グアニジン誘導体などが含まれる。具体的な化合物名としては、例えば、

S-アルキルイソチオウレア誘導体としては、

5 S-エチルイソチオウレア (EIT) (Can. J. Physiol. Pharmacol., Vol. 73, p. 665, 1995)、

S, S' - (1, 3-フェニレンビス (1, 2-エタンジニル)) ビス-イソチオウレア、

10 S, S' - (1, 4-フェニレンビス (1, 2-エタンジニル)) ビス-イソチオウレア、

S, S' - ((2, 5-ジメチル) - (1, 4-フェニレンビス (1, 2-エタンジニル))) ビス-イソチオウレア、

S - (3-メトキシフェネチル) イソチオウレア

15 S - (3 - (4-アミジノチオメチル) フェニルメチル) - プロピル) イソチオウレア

S, S' - (1, 4-フェニレンビス (1, 3-プロパンジニル)) ビス-イソチオウレア (The Journal of Biological Chemistry, Vol. 269, No. 43, p. 26669, 1994)、

などが挙げられ、

20 環状イソチオウレア誘導体としては、

3-アミノ-2-チア-4-アザ-cis-ビシクロ (4, 4, 0) -デカ-3-エン ヒドロクロリド、

2-アミノ-trans-5, 6-ジメチル-5, 6-ジヒドロ-4H-1, 3-チアジン ヒドロブロミド、

25 3-アミノ-2-チア-4-アザ-cis-ビシクロ (4, 4, 0) -ノナ-3-エン メタンスルホン酸塩

2-アミノ-trans-4, 5-ジメチル-5, 6-ジヒドロ-4H-1, 3-チアジン、

1 (S)-6(R)-4-アミノ-3-チア-5-アザ-cis-ビスクロ(4,
4, 0)-デカ-4-エン ヒドロクロリド

2-アミノ-cis-5, 6-ジメチル-5, 6-ジヒドロ-4H-1, 3-チ
アジン メタンスルホン酸塩

5 S-((2-アミノ-チアゾリノ)メチル)イソチオウレア、
2-アミノ-4-ヒドロキシメチル-チアゾリン (WO96/14842号公報)

2-アミノ-5, 6-ジヒドロ-6-メチル-4H-1, 3-チアジン (AMT)
(Can. J. Physiol. Pharmacol., Vol. 73, p. 6
10 65, 1995)、

などが挙げられ、

鎖状アミジン誘導体としては、

L-N-6-(1-イミノエチル)リシン塩酸塩 (NIL)、

15 N-(5S-アミノ-6, 7-ジヒドロキシヘプチル)エタンイミダミド ジヒ
ドロクロリド、

N-(5S-アミノ-6, 7-ジヒドロキシ-6-メチルヘプチル)エタンイミ
ダミド ジヒドロクロリド ジヒドラート、

N-(5S-アミノ-6, 7-ジヒドロキシオクチル)エタンイミダミド ジヒ
ドロクロリド ヒドラート、

20 3S-アミノ-7-((1-イミノエチル)アミノ)ヘプタン酸 (WO95/2
4382号公報)、

2-アミノ-6-(1-イミノエチルアミノ)-4, 4-ジオキソ-4-チアヘ
キサン酸、

25 2-アミノ-6-(1-イミノ-2-フルオロエチルアミノ)-4, 4-ジオキ
ソ-4-チアヘキサン酸 ジヒドロブロミド、

2-アミノ-6-(1-イミノエチルアミノ)-4-オキソ-4-チアヘキサン
酸 (WO95/34534号公報)、

などが挙げられ、

環状アミジン誘導体としては、

7- [4, 5-ジヒドロ-3-フェニルイソキサゾリル-5-イル) メチル] ヘキサヒドロ-2H-アゼピン-2-イミン モノトリフルオロ酢酸塩、

(一) -ヘキサヒドロ-7-(フェニルメチル)-2H-アゼピン-2-イミン
5 モノヒドロクロリド、

(±) (trans) 4-メチル-5-(フェニルメチル) ピロリジン-2-イミン
モノヒドロクロリド、

ヘキサヒドロ-7-(フェニルメチル)-2H-アゼピン-2-イミン モノヒ
ドロクロリド、

10 6-(シクロヘキシルメチル) ピペリジン-2-イミン モノヒドロクロリド、

7-(シクロヘキシルメチル) ヘキサヒドロ-2H-アゼピン-2-イミン モ
ノヒドロクロリド、

ヘキサヒドロ-7-(3-フェニルプロピル)-2H-アゼピン-2-イミン
モノヒドロクロリド、

15 ヘキサヒドロ-7-[(オキシラン-2-イル) メチル]-2H-アゼピン-2-
イミン モノヒドロクロリド、

ヘキサヒドロ-7-(3-フェニル-2-プロペニル)-2H-アゼピン-2-
イミン モノヒドロクロリド (WO 96/33175 号公報)、

2-イミノ-5(S)-ヒドロキシ-4(S)-メチル-ピペリジン ヒドロク
20 ロリド、

4(S)-メチル-4a(S), 8a(S)-デカヒドロ-2-イミノキノリン
ヒドロクロリド、

4(R)-メチル-4a(R), 8a(R)-デカヒドロ-2-イミノキノリン
ヒドロクロリド、

25 4(S)-メチル-4a(S), 7a(S)-ペルヒドロ-2-イミノ-1-ピ
リジン ヒドロクロリド、

4(R)-メチル-4a(R), 7a(R)-ペルヒドロ-2-イミノ-1-ピ
リジン ヒドロクロリド、

5 (R) -メチル-2-イミノ-ピペリジン ヒドロクロリド、
4 (R), 5 (R) -ジメチル-2-イミノ-ピペリジン ヒドロクロリド、
2-イミノ-5 (S) -メトキシ-4 (S) -メチル-ピペリジン ヒドロクロ
リド、

5 4 (R), 5 (S) -ジメチル-2-イミノ-ピペリジン ヒドロクロリド、
trans-デカヒドロ-2-イミノキノリン ヒドロクロリド (WO96/1
4844号公報)、

などが挙げられ、

2-アミノピリジン誘導体としては、

10 2-アミノ-4, 6-ジメチル-3-ニトロピリジン

2-アミノ-6-ベンジルピリジン (WO96/02637号公報)、

2-アミノ-6-(2-アミノエチル)-4-メチルピリジン (WO96/18
616号公報)、

などが挙げられる。

15 本発明の治療剤は、有効成分である i N O S 選択的阻害剤に、生理的に無害な
固体または液体の製剤担体を配合した種々の医薬組成物として使用することがで
きる。この医薬組成物は、投与方法に応じた各種の製剤形態に調製され、使用さ
れる。製剤形態としては、錠剤、顆粒剤、丸剤、カプセル剤、水剤、シロップ剤、
懸濁剤、乳剤、軟膏、貼付剤などが挙げられる。製剤担体として、通常用いられ
20 る賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、被覆剤、溶解補助剤、乳化剤、懸濁化剤、
安定化剤、または溶剤を使用することができる。本発明の治療剤は、経口剤ある
いは注射剤として全身投与したり、外用剤などの局所投与も可能である。

本発明の i N O S 選択的阻害剤の投与量は、患者の年齢、性別、症状の重篤度、
投与経路などによって異なるが、通常成人一日当たり、例えば、0. 01mg ~
25 1000mg であり、好ましくは0. 1mg ~100mg である。

本発明の、腫瘍細胞の骨転移阻害剤については、高頻度で骨への転移が認めら
れているヒト肺癌由来の H a r a 細胞を用いて作製される骨転移モデルを使用し
て、骨転移に対する予防効果を確認することができる。

本発明の腎炎治療剤については、5/6腎臓摘出術により作製される腎不全ラットを使用して、腎炎の進展に対する遅延効果ならびに慢性腎不全の進行抑制効果を確認することができる。

5 実施例

以下に、実施例により本発明をさらに説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例1：卵巣摘出骨粗鬆症ラットに対する効果

10 Wistar-Imamichi 雌性ラットに両側卵巣の摘出 (OVX) を施した。試験薬剤として、L-N-6-(1-イミノエチル) リシン塩酸塩 (NIL) およびS-エチルイソチオウレア (EIT) を用いた。これらの薬剤は、iNOS選択的阻害剤であることが知られており、NOS阻害活性は、NILは、 IC_{50} 値の比であるcNOS/iNOSが28であり、EITは、nNOS/iNOSが19.23、eNOS/iNOSが28.46であると報告されている
15 (W. M. Moore et al. : J. Med. Chem. , 37, 3886 (1994) ; W. Ross Tracey et al. Can. J. Pharmacol. 73 : 665-669 (1995))。また、試験系の妥当性を確認する目的で、17- β -エストラジオール ($\beta E2$) を用いた。

20 OVX後1日経過したラットの体重で7群(1群7匹)に分け、術後4日目より薬剤投与を開始した。また、対照群としてsham(偽手術)群(7匹)を設けた。NILを0.1および0.02mg/kg(体重100g当たり0.1mlを投与)、週5回10週間経口投与を行った。

結果を図1に示す。

25 図中、グラフは「平均±標準偏差」を表す。Dunnett'sの多重比較により卵巣摘出手術対照群からの統計的有意差を** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ で示した。

図1に示したように、最終投与24時間後のOVX対照群の腰椎骨密度は、S

ham群を100%とすると85.2%と有意に減少した($p<0.001$)。
EIT投与群では、92.6%と対照群で認められた骨密度の減少を有意に抑制した($p<0.01$)。

5 NIL投与群では、投与量0.1mg/kgにおいて90.2%と骨密度の減少抑制傾向が認められたものの、0.02mg/kgでは86.8%とOVX対照群の骨密度と同程度であった。

最終投与後に採取した尿の生化学検査表を表1に示した。

表1

NOS阻害剤投与後の尿中生化学パラメーター

尿中生化学パラメーター		
	投与量(mg/kg)	D-pyr/Cre
偽手術群	溶媒	7.66±0.05**
卵巣摘出手術対照群	溶媒	11.83±2.02
NIL投与卵巣摘出手術群	0.1	10.43±1.15
	0.02	8.70±1.59**
EIT投与卵巣摘出手術群	0.1	9.95±1.71
βE2投与卵巣摘出手術群	0.02	4.16±1.45***

Dunnnett'sの多重比較により卵巣摘出手術対照群からの統計的有意差を
** $p<0.01$, *** $p<0.001$ で示した。

例数=7

平均±標準偏差

表1に示したように、OVX対照群では、骨吸収のマーカであるデオキシピ
リジノリン (D-pyr) の排泄が sham群に比較して有意に亢進したが (p
< 0.01)、その亢進はNIL 0.02mg/kg投与により有意に抑制され
た (p < 0.01)。EIT投与群では統計的な有意差は認められなかったもの
5 の減少傾向が観察された。

産業上の利用の可能性

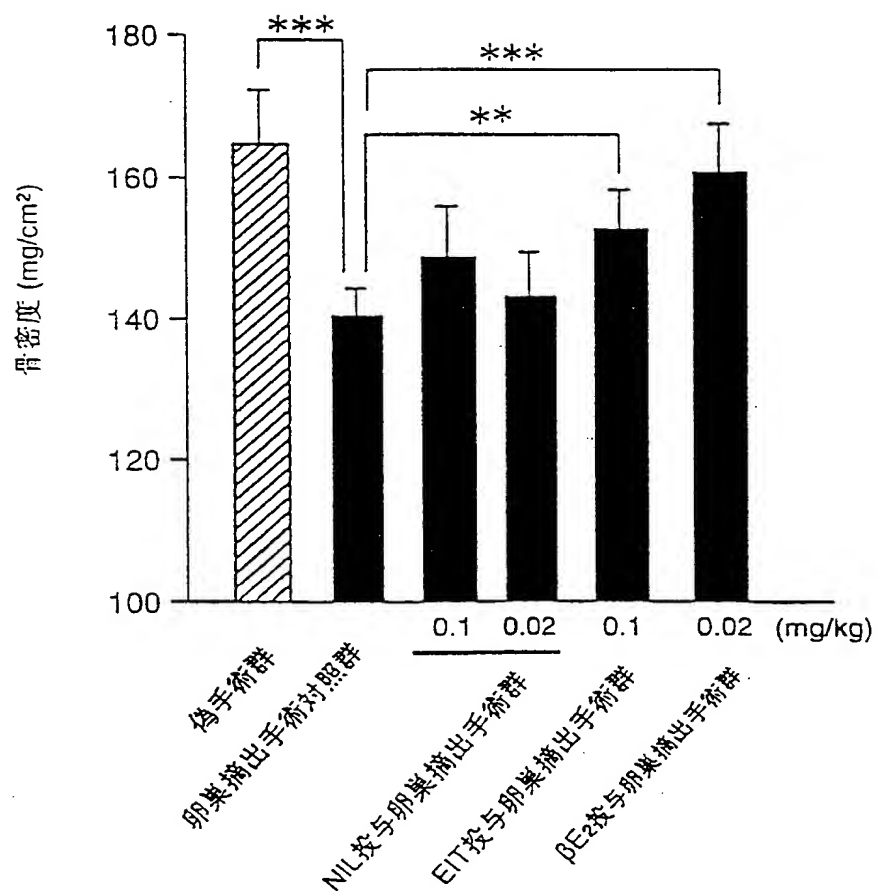
本発明によれば、iNOS選択的阻害剤を有効成分とする骨吸収関連疾患治療
剤が提供される。

請 求 の 範 囲

1. i N O S 選択的阻害剤を有効成分とする骨吸収関連疾患治療剤。
2. 骨粗鬆症治療剤として用いる請求項 1 記載の骨吸収関連疾患治療剤。
- 5 3. 骨量維持剤として用いる請求項 1 記載の骨吸収関連疾患治療剤。
4. 骨吸収抑制剤として用いる請求項 1 記載の骨吸収関連疾患治療剤。
5. 腫瘍細胞の骨転移阻害剤として用いる請求項 1 記載の骨吸収関連疾患治療剤。
6. 腎炎治療剤として用いる請求項 1 記載の骨吸収関連疾患治療剤。
- 10 7. 慢性腎不全の進行遅延剤として用いる請求項 1 記載の骨吸収関連疾患治療剤。

图 1

腰椎 (L 2 - L 4) 骨密度



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03581

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K45/00 // A61K31/17, 31/195

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K45/00 // A61K31/17, 31/195

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	RALSTON, S.H, NITRIC OXIDE AND BONE: WHAT A GAS!, British Journal of Rheumatology, August 1997, Vol. 36, No. 8, pp.831-838	1-7
A	SUNYER, Teresa et al., Ca ²⁺ or Phorbol Ester But Not Inflammatory Stimuli Elevate Inducible Nitric Oxide Synthase Messenger Ribonucleic Acid and Nitric Oxide(NO) Release in Avian Osteoclasts: Autocrine NO Mediates Ca ²⁺ -Inhibited Bone Resorption, Endocrinology, May 1997, Vol. 138, No. 5, pp.2148-2162	1-7
A	BLANDI, M.L. et al., Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, Vol. 92, pp.2954-2958	1-7
A	TRACEY, W. Ross et al., In vivo pharmacological evaluation of two novel type II (inducible) nitric oxide synthase inhibitors, Can. J. Physiol. Pharmacol., 1995, Vol. 73, pp.665-669	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
 26 October, 1998 (26. 10. 98)

Date of mailing of the international search report
 10 November, 1998 (10. 11. 98)

Name and mailing address of the ISA/
 Japanese Patent Office

Authorized officer

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03581

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MOORE, William M. et al., L-N ⁶ -(1-Iminoethyl)lysine: A Selective Inhibitor of Inducible Nitric Oxide Synthase, J. Med. Chem., 1994, Vol. 37, No. 23, pp.3886-3888	1-7

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 98/03581

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl[°] A61K45/00//A61K31/17, 31/195

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl[°] A61K45/00//A61K31/17, 31/195

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	RALSTON, S. H. NITRIC OXIDE AND BONE: WHAT A GAS!, British Journal of Rheumatology, August 1997, Vol. 36, No. 8, pp. 831-838	1-7
A	SUNYER, Teresa et al, Ca ²⁺ or Phorbol Ester But Not Inflammatory Stimuli Elevate Inducible Nitric Oxide Synthase Messenger Ribonucleic Acid and Nitric Oxide (NO) Release in Avian Osteoclasts: Autocrine NO Mediates Ca ²⁺ -Inhibited Bone Resorption, Endocrinology, May 1997, Vol. 138, No. 5, pp. 2148-2162	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 10. 98

国際調査報告の発送日

10.11.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

河下 浩一

4C

9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3453

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	BLANDI, M. L. et al, Bidirectional regulation of osteoclast function by nitric oxide synthase isoforms, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, Vol. 92, pp. 2954-2958	1 - 7
A	TRACEY, W. Ross et al, In vivo pharmacological evaluation of two novel type II(inducible) nitric oxide synthase inhibitors, Can. J. Physiol. Pharmacol., 1995, Vol. 73, pp. 665-669	1 - 7
A	MOORE, William M. et al, L-N ⁶ -(1-Iminoethyl)lysine: A Selective Inhibitor of Inducible Nitric Oxide Synthase, J. Med. Chem., 1994, Vol. 37, No. 23, pp. 3886-3888	1 - 7